

End of Result Set



Generate Collection

L10: Entry 4 of 4

File: DWPI

Dec 7, 1974

DERWENT-ACC-NO: 1975-02864W

DERWENT-WEEK: 197502

COPYRIGHT 2003 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Aq. antigen suspension for serodiagnosis of sypphilis - using active carbon or carbon activated by nitric acid as carrier

PATENT-ASSIGNEE: SUMITOMO CHEM CO LTD (SUMO)

PRIORITY-DATA: 1970JP-0010530 (February 5, 1970)

PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES	MAIN-IPC
JP 74046051 B	December 7, 1974		000	

INT-CL (IPC): G01N 33/16

ABSTRACTED-PUB-NO: JP 74046051B

BASIC-ABSTRACT:

The antigen and carrier of particle size 0.05-1.0 u are suspended in water. The C is heated in 1-3N-nitric acid under reflux for about 2 hrs. in a water bath and washed repeatedly by decantation. After 3-5 days washing, Ph of the carrier dispersion becomes 4-5. The dispersion is neutralised with a sodium hydroxide soln. to pH 7.0. When active carbon is used in this case, the prod. cannot be used as such because it is irregular in size. So collection of the carbon with comparatively small particle size is repeated by decantation. The aq. suspension is obtd. by prepg. a suspension of cardiolipin, lecithin and cholesterol by mixing 1 pt. of antigen contng. 0.03% cardiolipin, 0.9% cholesterol and 0.2% lecithin with 9 pts. of a buffered sodium chloride soln. contng. sodium chloride, disodium hydrogen phosphate and potassium dihydrogen phosphate is centrifuged at 3000 rpm. for about 15 mins. and the supernatant liq. is discarded. To the residual white ppte., is added the carbon dispersed in a buffer soln. at pH 6.0-7.0, and the resultant mixt. is well shaken to obtain a homogeneous suspension contng. cardiolipin, cholesterol, lecithin and carbon.

In order to increase agglutination, a metal chelating agent, e.g. EDTA or citric acid, an amine, e.g. ammonium chloride or ethhanolamine, antiseptic, e.g. formalin, phenylmercuric nitrate or phenol and glycerol or ethylene glycol may be added to the carbon buffer soln. if needed. When one drop (1/60 ml.) of the prepd. antigen suspension is mixed with 0.03-0.05 ml. of positive serum and allowed to react for 2-5 mins. with rotation, a visible black agglutinated mass appears.

ABSTRACTED-PUB-NO: JP 74046051B

EQUIVALENT-ABSTRACTS:

DERWENT-CLASS: B04 S03 S05

CPI-CODES: B01-D02; B04-B01B; B04-B04C; B12-K04;

End of Result Set



Generate Collection

L10: Entry 4 of 4

File: DWPI

Dec 7, 1974

DERWENT-ACC-NO: 1975-02864W
DERWENT-WEEK: 197502
COPYRIGHT 2003 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Aq. antigen suspension for serodiagnosis of sypilis - using active carbon or carbon activated by nitric acid as carrier

PRIORITY-DATA: 1970JP-0010530 (February 5, 1970)

PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES	MAIN-IPC
JP 74046051 B	December 7, 1974		000	

INT-CL (IPC): G01N 33/16

ABSTRACTED-PUB-NO: JP 74046051B
BASIC-ABSTRACT:

The antigen and carrier of particle size 0.05-1.0 u are suspended in water. The C is heated in 1-3N-nitric acid under reflux for about 2 hrs. in a water bath and washed repeatedly by decantation. After 3-5 days washing, Ph of the carrier dispersion becomes 4-5. The dispersion is neutralised with a sodium hydroxide soln. to pH 7.0. When active carbon is used in this case, the prod. cannot be used as such because it is irregular in size. So collection of the carbon with comparatively small particle size is repeated by decantation. The aq. suspension is obtd. by prepg. a suspension of cardiolipin, lecithin and cholesterol by mixing 1 pt. of antigen contng. 0.03% cardiolipin, 0.9% cholesterol and 0.2% lecithin with 9 pts. of a buffered sodium chloride soln. contng. sodium chloride, disodium hydrogen phosphate and potassium dihydrogen phosphate is centrifuged at 3000 rpm. for about 15 mins. and the supernatant liq. is discarded. To the residual white ppte., is added the carbon dispersed in a buffer soln. at pH 6.0-7.0, and the resultant mixt. is well shaken to obtain a homogeneous suspension contng. cardiolipin, cholesterol, lecithin and carbon.

In order to increase agglutination, a metal chelating agent, e.g. EDTA or citric acid, an amine, e.g. ammonium chloride or ethhanolamine, antiseptic, e.g. formalin, phenylmercuric nitrate or phenol and glycerol or ethylene glycol may be added to the carbon buffer soln. if needed. When one drop (1/60 ml.) of the prepd. antigen suspension is mixed with 0.03-0.05 ml. of positive serum and allowed to react for 2-5 mins. with rotation, a visible black agglutinated mass appears.

ABSTRACTED-PUB-NO: JP 74046051B
EQUIVALENT-ABSTRACTS:

End of Result Set



Generate Collection

L10: Entry 4 of 4

File: DWPI

Dec 7, 1974

DERWENT-ACC-NO: 1975-02864W

DERWENT-WEEK: 197502

COPYRIGHT 2003 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Aq. antigen suspension for serodiagnosis of syphilis - using active carbon or carbon activated by nitric acid as carrier

Basic Abstract Text (1):

The antigen and carrier of particle size 0.05-1.0 u are suspended in water. The C is heated in 1-3N-nitric acid under reflux for about 2 hrs. in a water bath and washed repeatedly by decantation. After 3-5 days washing, Ph of the carrier dispersion becomes 4-5. The dispersion is neutralised with a sodium hydroxide soln. to pH 7.0. When active carbon is used in this case, the prod. cannot be used as such because it is irregular in size. So collection of the carbon with comparatively small particle size is repeated by decantation. The aq. suspension is obtd. by prepg. a suspension of cardiolipin, lecithin and cholesterol by mixing 1 pt. of antigen contng. 0.03% cardiolipin, 0.9% cholesterol and 0.2% lecithin with 9 pts. of a buffered sodium chloride soln. contng. sodium chloride, disodium hydrogen phosphate and potassium dihydrogen phosphate is centrifuged at 3000 rpm. for about 15 mins. and the supernatant liq. is discarded. To the residual white ppte., is added the carbon dispersed in a buffer soln. at pH 6.0-7.0, and the resultant mixt. is well shaken to obtain a homogeneous suspension contng. cardiolipin, cholesterol, lecithin and carbon.

Standard Title Terms (1):

AQUEOUS ANTIGEN SUSPENSION SEROLOGICAL SYPHILIS ACTIVE CARBON CARBON ACTIVATE NITRIC ACID CARRY

1

④ 梅毒血清診断用抗原水性懸濁液

① 特 願 昭45-10530

② 出 願 昭45(1970)2月5日

③ 発 明 者 足立奈尾

茨木市橋之内1の12の12

④ 出 願 人 住友化学工業株式会社

大阪市東区北浜5の15

⑤ 代 理 人 弁理士 沢浦雪男

発明の詳細な説明

本発明は、カーボンを担体に使用した梅毒血清診断用水性懸濁液に関する。

1906年にワッセルマン反応が報告されて以来、現在に至るまで200種類以上に及ぶ検査方法が報告されている。これは梅毒が社会的に大きな問題をもたらす疾患である理由によるばかりでなく、現在なお特異度、鋭敏度とも100%を示す検査方法が確立されていないことにもよるのである。ペニシリン療法が普及する以前には顕症梅毒が殆んどで、臨床的な所見が重視されていたが、ペニシリン療法が普及するに及んで、顕症梅毒が目立つて減少し、反対に潜伏梅毒が著しく増加してきている。このような現状では梅毒の血清学的診断法の重要性がますます増大し、迅速かつ正確な診断法の確立が一層強く要求される訳である。本発明は、梅毒診断を迅速に、鋭敏にかつ正確に行なうことを期するものである。

梅毒の血清学的な診断法は、梅毒の病原体侵入により体内に産生した抗体と、これと反応する抗原との相互作用による凝集を判別するもので、一般には担体を使用して、この抗原抗体反応による凝集の識別性を高めている。担体として使用し得る物質には、活性炭、人および羊の赤血球、細菌の細胞、コレステロール、シリカ、アルミナ、カ

2

的生産にのせる場合、処理、保存等に特別の配慮を要す。コレステロール等を担体とした場合は、凝集塊が白色ないし淡黄色であるため、肉眼での観察には不利である。またラテックスを担体とした場合は、生物学的偽陽性が高く出る危険性がある。シリカ、アルミナ、カオリン、ベントナイト等の極性吸着剤は、白色ないし淡黄色であるため、肉眼での観察には不利であり、これらに色素を吸着させてコントラストを鮮やかにする試みもなされているが、色素の遊離等の問題も考慮されねばならなくなる。カーボンを担体とした場合は、カーボンの特性、すなわち、黒色であるためコントラストが優れていること、吸着力が大きいこと、処理、取扱いが簡便であること、分散性が優れていること、安価であること等の諸条件が揃い、工業的にも、物理的、化学的にも、生物学的にも有利な優れた担体であることが明白である。

カーボンを担体とした抗原には、米国特許3074853号明細書記載方法がある。この方法は、白色プレート上でコントラストのよい色素を吸着させた吸着剤ないし特にカーボン担体として簡便に診断が行なえる方法である。しかしながら抗原抗体反応による凝集度は、カーボンの種類、性状により著しく異なり、それによる梅毒診断の鋭敏度に著しく影響するものである。そこで本発明者は、カーボンブラックないしは活性炭の粒子径および賦活方法について種々検討し、抗原抗体反応の担体として最も有効な処理法を確立することに成功した。ひとくちに活性炭の賦活方法と言つても多種多彩である。単に加熱焼成を行なう方法ばかりでなく、酸化性ガスすなわち水蒸気、空気、炭酸ガスなどを高温で作用させる方法、硫酸、リン酸、塩酸、硝酸、ホウ酸等の酸により処理を行なう方法、カセイカリ、カセイソーダ等アルカリで処理する方法等がある。本発明者はこれらの賦活方法を種々試みた結果、硝酸処理を行なう方法が、抗原抗体反応の担体として最も効果的

なカーボンを得る方法であることが判かった。各種賦活方法を比較実験した結果を後述の表に示す。このデータは、米国デイド・リエイジェンツ社製、ミドリ十字発売の梅毒反応陽性コントロール血清を用いて鋭敏度を比較したものである。1:16⁵ *はコントロール血清の16倍希釈血清までが陽性を示したもので、1:32は同様に32倍希釈血清まで陽性を示したものを指す。なお活性炭の場合は硝酸処理により簡単に小さな粒子を分取することができ、担体として使用可能になった。

各種賦活方法の比較

	カーボンブラック			活性炭
	平均粒径 20m μ	80m μ	210m μ	白サギA
未処理	1:8	1:16	1:16	不適
H ₂ O ₂ 処理	1:8	1:16	1:16	不適
HCl "	1:8	1:16	1:16	不適
HNO ₃ "	1:16	1:32	1:32	1:32
H ₂ SO ₄ "	1:8	1:16	1:16	不適
H ₃ PO ₄ "	1:8	1:16	1:16	不適
NaOH "	1:8	1:16	1:16	不適
EtOH "	1:8	1:16	1:16	不適
熱処理 (500°C / 250°C)	1:8	1:16	1:16	不適

以上の比較実験は、コントロール血清ばかりでなく、人梅毒、人非梅毒血清についても検討を行ない、同様に硝酸処理を行なったカーボンを担体とした場合、最も鋭敏度が優れていることを確認している。凝集抗原の担体であるカオリンを塩酸処理により賦活している事実もあるが、活性炭カーボンブラックについては塩酸処理は無効であった。

さらに担体に使用するカーボンの粒子径についても検討を加え、硝酸処理を行なったカーボンのうちでも、平均粒径0.05 μ ~1.0 μ の間のカーボンを担体とした場合、肉眼での判定には最も効果的であることも確認した。

以下硝酸処理について述べる。用いるカーボンは活性炭でもカーボンブラックでもよい。カーボンを1N~3Nの硝酸溶液中で硝酸を還流させながら約2時間水浴上で加熱する。その後デカンテーションをくり返して硝酸を洗滌する。約3日~5日洗滌をくり返せば、カーボン液のpHは4~5になる。この液をpH7.0までカセイソーダで

中和する。カーボンとして活性炭を用いた場合には、粒径が不揃いであるためそのまま使用することはできない。そこで洗滌が進むにつれ水中に浮遊した比較的粒径の細かいカーボンのみをデカンテーションにより採取し、さらに細かい粒子のカーボンについて洗滌をくり返す方法をとった。この処理を行なえば粒子径の不均一な活性炭でも使用に耐えうる。カーボンブラックを用いた場合には、比較的粒子が均一なため、細かい粒子のみを分取する処理は不用である。洗滌中和後にカーボンの分散が悪く液の下層に沈降しているので、コロイドミルやホモジナイザー等を用いて機械的な分散を計るか、超音波処理を行なつてカーボンを水に分散させる。

通常、本発明の水性懸濁液の調製は以下の方法で行なう。0.03%カルジオライピン、0.9%コレステロールおよび0.2%レシチンを含む抗原の一部と、食塩、第二磷酸ナトリウム、第一リン酸カリウム等を含む緩衝食塩水9部とを混ぜ合わせ、カルジオライピン、レシチン、コレステリンの懸

5

濁液を調製する。この懸濁液を3000 r.p.m.で約15分間遠心分離を行ない、上清を捨て去ると白色沈殿物が残る。この白色沈殿物に、先程本発明の利点で述べたところのカーボンを食塩を適量含むMellvaine緩衝液、Michaelis緩衝液のよ5うなpH 6.0~7.0の緩衝液に分散させたカーボン緩衝液を加えてよく振盪して、カルジオライビンコレステロール、レシチンカーボンから成る均一な懸濁液にすることにより、抗原水性懸濁液を調製する。このカーボン緩衝液には、目的によつて必要ならば、凝集の増大を計るため、EDTA、クエン酸のような金属キレート剤を0.01~0.05 M、塩化アンモニウム、エタノールアミンのようなアンモニウム塩、アミン類を4~12%、ホルマリン、フェニル硝酸水銀、フェノール等の15防腐保存剤を0.05~0.25%、グリセリン、エチレングライコールのような粘稠剤を1~2%等を加えることもできる。またカーボンを、抗原調製第1段階の緩衝食塩水に分散させ、カルジオライビン、レシチン、コレステロールからなる純ア20ルコール溶液と混合し、これらの懸濁粒子とカーボンとを同時に遠心分離し、これらの沈殿物にpH 6.0~7.0の先述した緩衝液を加える方法によつても同様に調製される。

以上の手順で調製した抗原液1滴(1/60 ml) 25と陽性血清0.03 ml~0.05 mlとを白色磁製板上で混ぜ合わせ、2~5分間液を回転させながら反応させると、肉眼で観察可能な黒色の凝集塊が現われる。陰性血清を同様にして抗原液と反応させると凝集塊は現われず、カーボンが細かい粒子30で均一に分散したままで、プレート上の反応液は灰色を呈した状態を変えない。

またこの抗原を用いると、梅毒血清を一連の希釈を行なうことにより、梅毒感染の半定量も行なえることを確認した。

なお硝酸処理を行なった本発明におけるカーボンは、TP抗原(*Treponema Pallidum*の菌体成分)の担体としても使用可能である。

次に実施例を示す。

実施例 1

活性炭(白サギA)10gを2N HNO₃ 200 mlに加え、水浴上で2時間加熱する。この間、HNO₃が蒸発するが、これには還流を行なつて溶液中のHNO₃濃度を減少させないようにする。

6

2時間煮沸後、液を放置してカーボンを液の下層に沈降させる。上澄液をデカンテーションで除き、新たに蒸留水を適量加え液を攪拌する。さらに再びカーボンが沈降するまで放置し、沈降後デカンテーションを行なう。このような処理を幾度か行なうに従がつて、カーボン液のpHは徐々に高くなる。pHが3程度になると活性炭のうちの細かい粒子が沈降しにくくなる。沈降しなくなる活性炭の量がかなり多くなつた時点で、上清中に分散している細かいカーボンのみをデカンテーションにより採取する。その後は、この沈降しなくなつた粒径の小さいカーボンのみを遠心分離を行ないながら洗滌をくり返す。pHが5付近になつた時点で、0.1N NaOHにて液をpH 7.0まで中和する。最後にカーボン濃度を2.5 mg/ml H₂Oに調整する。このようにして得られたカーボンを電子顕微鏡で観察すると、大体粒径0.1 μ~1.0 μの間のものであることが判かつた。以上の手順で抗原液に使用するカーボンを得ると、次の処方35でカーボン緩衝液を調製する。(カーボン緩衝液)

食塩を適量含むMellvaine緩衝液	5.0
5%ホルマリン	0.1~0.5
40%エタノールアミン	1.0~3.0
40%グリセリン	0.25~0.5
2.5mg/ml H ₂ Oカーボン液	0.75~1.0
H ₂ O	2.9~0

計 10.0 ml

抗原水性懸濁液は以下の要領で調製される。ガラス板法抗原、すなわち、カルジオライビン0.03%、精製レシチン0.18~0.30%、精製コレステロール0.90%の純アルコール溶液1mlを、あらかじめ試験管に入れた緩衝食塩水0.8 mlにゆつくりと、試験管をよく振りながら加える。これにさらに緩衝食塩水8.2 mlを加え、よく混ぜ合わせる。このガラス板法抗原のサスペンジ35オンを3000 r.p.m.で15分遠心分離を行ない、上澄液を捨てる。残つたカルジオライビン、レシチン、コレステリンからなる白色沈殿物に、先程調製したカーボン緩衝液を10 ml加える。よく振盪し、これを抗原水性懸濁液とする。

7

実施例 2

平均粒径 0.21μ を持つカーボンブラック $10g$ を $2N\ HNO_3\ 200ml$ に加え、水浴上で2時間煮沸する。この間実施例1と同様、 HNO_3 の還流を行なう。2時間煮沸後液を放置し、カーボンが下層に沈降するのを待つ。カーボン沈降後、上澄をデカンテーションで除き、新たに蒸留水を適量加えよく攪拌する。さらに再びカーボンが沈降するまで放置し、沈降後デカンテーションを行なう。3日間、以上の処理をくり返してカーボン10を洗滌すると、カーボン液のpHが5付近まで高

8

くなる。この段階でもカーボンは沈降するので、音波処理を行ない水中に分散させる。その後pHを7.0まで $0.1N\ NaOH$ で中和する。以上の手順で抗原液に担体として使用するカーボンを得た後は、実施例1と同様の手順で抗原水性懸濁液を調製する。

㊦特許請求の範囲

1 梅毒抗原と、硝酸処理によつて賦活化した平均粒径 $0.05\mu\sim 1.0\mu$ の、活性炭ないしカーボンブラックを水に懸濁させてなることを特徴とする梅毒診断用抗原水性懸濁液。

WEST

Detail Page

2.Document ID: JPS49046051B

Application Number: 1053070

Publication Date: 19741207

Priority:

- Priority Country: JP
- Priority Number: 1053070
- Priority Date: 19700205